

УДК 616-056.3-099-053.2

ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У ДЕТЕЙ

**Т.С. Колмакова, Е.В. Моргуль, О.С. Оксенюк, Ю.А. Калмыкова,
О.Б. Смирнова, А.Р. Моргуль**

Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону

Крапивница и атопический дерматит сопровождаются развитием воспалительной реакции и эндотоксимией. В работе проведено изучение появления эндотоксичных продуктов в крови детей болеющих атопическим дерматитом, крапивницей в возрасте от 1 года до 5 лет. Установлено, что при IgE-зависимом течении заболеваний, содержание IgE в крови детей коррелирует с содержанием кортизола и отражает характер воспалительного процесса. Остропротекающий воспалительный процесс при крапивнице сопровождается истощением запасов гормона и более выраженным накоплением продуктов эндотоксемии – ЦИК и МСМ, определяемых при длинах волн 280 и 254 нм по сравнению с атопическим дерматитом. Окислительные процессы, как триггер повреждения клеточных структур, в том числе и ДНК, более выражены при атопическом дерматите. Высказано предположение, что хроническое течение заболевания формирует адаптивные механизмы ограничения воспалительного процесса, это проявляется повышением уровня кортизола в крови детей с атопическим дерматитом.

Ключевые слова: дети, крапивница, атопический дерматит, молекулы средней массы, циркулирующие иммунные комплексы, кортизол.

DOI: 10.26456/vtbio95

Введение. Аллергические заболевания – одна из актуальных проблем современной медицины. Особую тревогу вызывает значительное увеличение аллергических заболеваний у детей. Атопический (аллергический) марш, начинающийся в раннем детстве, зачастую, сопровождает человека в течение всей жизни. «Аллергический марш» подразумевает этапность развития сенсibilизации и трансформации клинических проявлений аллергии в зависимости от возраста у ребенка с атопией. Наиболее ранними

аллергическими заболеваниями (АД) в детском возрасте являются бронхиальная астма и аллергического ринита (Shaker, 2014; Alduraywish et al., 2016). В числе наиболее распространенных аллергических заболеваний у детей, поражающих в первую очередь

кожные покровы, немаловажное место занимает крапивница. Данное заболевание чаще проявляется в раннем детстве до 3 лет, но возможно и у детей подросткового возраста, и у взрослых. В детском возрасте преобладает острая крапивница, которая у детей с atopическими заболеваниями выявляется чаще. Так, распространенность крапивницы среди детей раннего возраста с АД составляет 16,2% (Lee et al., 2011). Более чем у 50% больных с острой крапивницей выявляются и другие аллергические заболевания (Сизякина и др., 2015). Причины острой крапивницы у детей чрезвычайно разнообразны: пищевая аллергия, лекарственные препараты, вирусы, бактерии, паразиты. Антропогенное загрязнение окружающей среды значительно влияет на структуру заболеваемости населения и повышает риск развития аллергических заболеваний, в том числе АД и крапивницей (Колмакова и др., 2012).

Аллергическое воспаление в любом из органов – мишеней сопровождается вовлечением клеточных и медиаторных участников аллергического каскада. Atopические заболевания отягощают течение любого воспалительного процесса в организме, поскольку они значительно изменяют его цитокиновый профиль (Стагниева, Симбирцев, 2015).

Эндогенная интоксикация неизбежно появляется при воспалительном процессе, что во многом определяет тяжесть течения заболевания и эффективность лечения. Согласно современным представлениям эндогенную интоксикацию связывают с накоплением в тканях и биологических жидкостях организма метаболитов нормального или патологического обмена веществ. Это соединения с молекулярной массой от 300 до 5000 Д, которые принято называть молекулами средней массы (МСМ). Пул МСМ формируется преимущественно из двух групп веществ: небелковые производные различной природы - мочевины, креатинина, мочевая кислота, глюкоза, жирные кислоты, холестерин, фосфолипиды, продукты свободнорадикального окисления, а также пептиды, выполняющие регуляторные и нерегуляторные функции (гормоны, нейропептиды, медиаторы иммунного ответа и др.). Существенная особенность МСМ заключается в их высокой биологической активности, поэтому в дальнейшем они усугубляют течение патологического процесса, приобретая роль вторичных токсинов, оказывая влияние на жизнедеятельность всех систем и органов. Эти свойства проявляются при концентрациях МСМ, превышающих физиологические. Повышение уровня МСМ в крови обусловлено нарушением их элиминации из организма, усилением образования в тканях, либо сочетанием обоих механизмов. Отмечается, что эндотоксемия различного генеза сопровождается увеличением концентрации МСМ,

при этом уровень МСМ коррелирует с тяжестью состояния больных и может служить показателем степени токсикоза (Габриэлян, Липатова, 1984).

Одним из показателей, отражающим тяжесть течения аллергического процесса является содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), которые накапливаются при взаимодействии иммуноглобулинов с эндо- и экзоантигенами. Эти реакции служат выражением защитной или гомеостатической функции иммунитета. Однако при определенных условиях комплекс аллергенов и антител может вызывать повреждение и развитие заболевания. В норме иммунные комплексы, образовавшиеся в кровотоке, фагоцитируются и разрушаются как фагоцитами, так и печенью. Однако при увеличении их размера (при избытке антигена и наличии в их структуре IgM, C1q-компонента комплемента) комплексы могут откладываться в периваскулярном пространстве и корковом слое почек, вызывая активацию комплемента и воспалительные процессы. Патологические реакции на иммунные комплексы могут быть обусловлены повышением скорости их образования над скоростью элиминации, дефицитом одного или нескольких компонентов комплемента или функциональными дефектами фагоцитарной системы. Определение уровня иммунных комплексов в сыворотке крови имеет важное значение в диагностике острых воспалительных процессов и аллергических реакций 3-го типа, при которых уровень ЦИК повышается, а также в оценке эффективности проводимого лечения.

Механизм атопических аллергических реакций, к числу которых относятся крапивница и АД, тесно связан с иммуноглобулинами Е (реагинами). Они обладают способностью к быстрой фиксации на клетках кожи, слизистых оболочек, тучных клетках и базофилах и в свободном виде IgE присутствует в плазме крови в ничтожных количествах. Поэтому определение уровня IgE имеет важное прогностическое значение. Повышенный уровень IgE у детей с аллергией и гиперчувствительностью к большому количеству аллергенов выявляется чаще, чем у детей с гиперчувствительностью к малому количеству аллергенов. Наиболее высокие значения IgE в крови отмечаются при гиперчувствительности к большому числу аллергенов в комбинации с астмой, наследственным дерматитом.

МСМ и ЦИК могут служить факторами повреждения ДНК, что имеет огромное значение в сохранении стабильности генома и реализации генетической информации в онтогенезе.

На основании изложенного выше, целью работы стало изучение особенностей эндогенной интоксикации у детей больных крапивницей и атопическим дерматитом.

Методика. В исследовании приняли участие 32 ребенка в возрасте от 1 года до 5 лет, из них 16 детей болели АД и 16 детей – крапивницей. Диагнозы поставлены при госпитализации в детскую городскую больницу №2 г.Ростова-на-Дону в острый период заболевания. Кровь для исследования брали из локтевой вены до начала специализированного медикаментозного лечения. Обследование детей проводилось при наличии информированного согласия родителей. В качестве контроля использовали данные, полученные при диспансеризации 40 клинически здоровых детей в возрасте от 1 года до 5 лет.

Определение концентрации в сыворотке крови 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина (8-OHdG), IgE, кортизола, перекисей (OxyStat) проводили тест-системами для твердофазного иммуноферментного анализа: ELISA Kit, EKS-350 («Biohem Acquires Assay Designs», США); общий IgE ИФА K200 (Хема-Медика, Россия); кортизол ИФА K210 (Хема-Медика, Россия); ELISA Kit, OxyStat, 442-5007 (Biomedica, Австрия) (соответственно) с использованием анализатора Wallac 1420 (Финляндия).

Содержание МСМ определяли в сыворотке крови с помощью скрининг метода Н.И. Габриэлян, В.И. Липатова (1984) при двух длинах волн: 280 нм (МСМ₂₈₀, содержащая ароматические аминокислоты) и 254 нм (МСМ₂₅₄, наиболее токсическая фракция, содержащая нуклеопротеины) спектрофотометром Hitachi U-2900 (Япония). Результаты исследования представляли в единицах, количественно равных показателям экстинкции.

Для определения ЦИК в сыворотке крови использовали метод на основе преципитации 3,75% раствором ПЭГ-6000, с последующей регистрацией при $\lambda=450$ нм спектрофотометром Hitachi U-2900 (Япония), полученное значение экстинкции умножали на 1000, что и являлось величиной ЦИК, выраженной в условных единицах (усл. ед.) (Горячева и др., 1997).

Статистическую обработку проводили по t-критерию Стьюдента, корреляционный анализ выполнен по критерию Пирсона с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение. Полученные данные подтвердили IgE-зависимый характер аллергии у обследуемых детей. Как видно из таблицы 1, концентрация IgE в сыворотке крови детей больных АД превышает данный показатель контрольной группы в 3,7 раза, а у больных крапивницей в 2,7 раза.

Однако содержание ЦИК в крови детей при аллергии значительно ниже контроля. При этом у детей с крапивницей содержание ЦИК ниже контроля на 14,0%, тогда как при atopическом дерматите данный показатель снижен на 66,0%. Очевидно,

установленное различие между клиническими группами связано с разной длительностью течения заболеваний. Крапивница - остропротекающий процесс, который сопровождается одновременным выбросом большого количества биологически активных веществ, способных повреждать белки и нуклеиновые кислоты. Атопический дерматит – длительно текущее, часто рецидивирующее заболевание, приводящее к истощению регуляторных систем. Известно, что при аллергических заболеваниях имеет место вторичный иммунодефицит. Полученные нами результаты позволяют говорить о том, что при АД иммунодефицитность носит более значимый характер. На это указывает снижение показателей гуморального звена иммунитета у детей и содержания крупных ЦИК, ассоциированных с иммуноглобулинами (табл.1).

Таблица 1
Содержание ЦИК и иммуноглобулинов в крови (сыворотке) детей, болеющих атопическим дерматитом и крапивницей ($M \pm m$)

Показатель	Контроль, n= 40	Крапивница, n=16	Атопический дерматит, n=16
IgE, МЕ/мл	51,6 \pm 14,9	138,3* \pm 12,3	189,1 \pm 53,8*
ЦИК, усл. ед.	90,2 \pm 5,3	77,5* \pm 8,7	29,5* \pm 7,4

Примечание. М - среднее арифметические величины, m - стандартная ошибка среднего значения, * - достоверность разницы ($p < 0,05$ по критерию Стьюдента) в сравнении с данными контрольной группы.

Таблица 2
Показатели стабильности ДНК, окислительного повреждения и эндогенной интоксикации в крови детей, болеющих атопическим дерматитом и крапивницей ($M \pm m$)

Показатель	Контроль, n= 40	Крапивница, n=16	Атопический дерматит, n=16
перекиси, мкмоль/л	645,0 \pm 38,0	535,0 \pm 78,0*	709,0 \pm 66,0*
8-OHdG, нг/мл	15,2 \pm 0,6	12,7 \pm 0,9*	12,1 \pm 0,4*
Кортизол, нмоль/л	212,4 \pm 18,6	134,0 \pm 15,6*	254,4 \pm 14,5*
МСМ _{280нм} , ед. экст.	0,2 \pm 0,006	0,3 \pm 0,07*	0,3 \pm 0,05*
МСМ _{254 нм} , ед. экст.	0,1 \pm 0,004	0,2 \pm 0,06*	0,1 \pm 0,02

Примечание. М - среднее арифметическое величины, m - стандартная ошибка среднего значения, * - достоверность разницы ($p < 0,05$ по критерию Стьюдента) в сравнении с данными контрольной группы.

Одним из повреждающих клетку факторов является накопление продуктов свободнорадикального окисления, в том числе гидроперекисей. Анализ полученных результатов выявил разнонаправленные изменения концентраций перекисей в сыворотке

крови детей больных АД и крапивницей (табл. 2).

У детей больных крапивницей концентрация перекисей ниже по сравнению с результатами контрольной группы на 17,0%, тогда как, в группе обследуемых с диагнозом АД выше контрольных значений. Однако в этой группе изменения были незначительными и увеличение показателя составило всего 9,0%. Получение различия свидетельствуют о разных механизмах нарушения адаптивного потенциала (Моргуль и др., 2015). Возможно, длительное течение заболевания, характерное для атопического дерматита, привело к формированию защитных или адаптационных механизмов, направленных на снижение окислительного повреждения с образованием токсических продуктов метаболизма эндогенного происхождения, подобно тому, как адаптируется организм к умеренной гипоксии при кровопотере (Бойко и др., 2010). На возможность такого процесса указывают результаты исследования продуктов повреждения ДНК.

Анализ содержания 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина выявил интересный и неожиданный результат – в крови больных детей его меньше на 18,0%, чем у здоровых. По некоторым имеющимся литературным данным у детей старшего возраста, страдающих АД, наблюдается повышение уровня повреждения ДНК (Tsukahara et al., 2003). Возможно, полученные нами результаты отражают возрастные особенности репарационных процессов и связаны с активацией механизмов защиты ДНК от окислительного повреждения при развитии аллергической реакции у детей первых лет жизни (Моргуль и др., 2013).

На возможность высокой активности антимутагенных процессов у детей с аллергией указывают данные корреляционного анализа. При анализе выборки больных с уровнем IgE выше нормы регистрируется высокая положительная корреляция (коэффициент корреляции Пирсона, $r=0,58$) между уровнем 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина и кортизола в крови детей (табл. 2). Следует отметить, что у детей с острой крапивницей содержание кортизола ниже контрольных значений на 40,0%, у детей с АД, напротив, выше контроля на 20,0%. Очевидно, остро развивающийся аллергический процесс при крапивнице приводит резкому истощению запаса гормона. При АД воспалительный процесс в коже имеет место даже в состоянии ремиссии. Так как содержание кортизола отражает интенсивность воспалительных процессов, то в данном случае получено подтверждение патогенетической связи между окислительной активностью и повреждением. В связи с этим можно полагать, что относительно высокая стабильность ДНК у больных детей – это проявление известного феномена преадаптации, когда

слабое мутагенное воздействие повышает устойчивость организма к повреждению ДНК (Гуськов и др., 2009). Разнонаправленный характер изменения кортизола в крови детей с АД и крапивницей, также подтверждает, что длительность течения заболевания является важным фактором формирования защитных механизмов от эндогенных факторов повреждения. По-нашему мнению, снижение уровня кортизола в крови детей с крапивницей связано с выбросом большого количества гормона и его быстрого расходования. При АД имеет место сформированный ответ на длительное воздействие эндогенной интоксикации, что сопровождается умеренным повышением синтеза и секреции гормона.

Время формирования аллергического ответа отразилось и на показателях эндотоксими. При крапивнице в крови детей содержание МСМ, определяемых при $\lambda = 280$ нм, выше результатов контрольной группы на 63,0%, а при АД на 47,0%. По сравнению с контрольными данными, количество МСМ, повреждающих ядерные структуры клеток ($\lambda = 254$ нм), у больных крапивницей почти в 2 раза больше. Однако заболевание редко носит хронический характер и обычно проявляется как отдельный эпизод у большинства людей, поэтому значительного преобладания и нарушения соотношения фракций МСМ в крови больных по сравнению с контролем не отмечалось.

Как видно из таблицы 2, при АД накопление МСМ протекает меньше, чем при крапивнице. Однако количество МСМ, определяемых при $\lambda = 254$ нм в крови детей с АД достоверно выше, чем в контрольной группе, что отражает высокую вероятность повреждения ядерного аппарата клетки.

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют говорить, что иммунодефицитное состояние, свойственное аллергическим заболеваниям, проявляется в снижении образования ЦИК и выведении антигенов из организма. При крапивнице остропротекающий аллергический ответ организма сопровождается выбросом в кровь за короткое время большого количества биологически активных веществ как повреждающих клетки, так и направленных на ограничение процесса, в том числе и кортизола. При этом, вероятно, расходуются как функциональный, так и резервный пул гормона, что приводит к снижению его содержания в крови и к количественному увеличению продуктов эндогенной интоксикации. Повышение содержания МСМ в крови детей с АД можно рассматривать как процесс длительного их накопления на фоне хронического воспалительного процесса. Вероятно, фактор времени играет важную роль в формировании регуляторных механизмов, направленных на ограничение воспалительной реакции. По нашему

мнению, это объясняет факт повышения содержания кортизола в крови детей с АД.

Заключение. Несмотря на различный характер и длительность течения заболевания крапивница и АД имеют ряд общих патогенетических звеньев, а именно высокое содержание продуктов эндогенной интоксикации, как следствие иммунодефицитного состояния организма.

Список литературы

- Бойко Н.В., Колмакова Т.С., Быкова В.В. 2010. Биохимические показатели компенсации постгеморрагической анемии у больных с носовыми кровотечениями // Вестник оториноларингологии. № 4. С. 13-16.
- Габриэлян Н.И., Липатова В.И. 1984. Опыт использования показателей средних молекул для диагностики нефрологических заболеваний у детей // Лабораторное дело. № 3. С. 138 –140.
- Горячева Н.В., Булава Г.В., Ветошкин А.Н., Годков М.А. 1997. Модификация определения циркулирующих иммунных комплексов различных величин в сыворотке крови человека // Клиническая лабораторная диагностика. № 5. С. 77-79.
- Гуськов Е.П., Машикина Е.В., Беличенко Н.И. 2009. Мутационные процессы у животных, преадаптированных к окислительному стрессу // Экологическая генетика. № 1. С. 41-48.
- Колмакова Т.С., Туников В.А., Шпак Л.И. 2012. Влияние антропогенного загрязнения на здоровье жителей Ростовской области // Медицинский вестник Юга России. № 3. С. 16-18.
- Моргуль Е.В., Чистяков В.А., Колмакова Т.С., Кобзева Н.Н., Слюсарева Е.С. 2013. Перспективы профилактики повреждений ДНК при аллергических заболеваниях у детей с помощью пробиотических препаратов // Валеология. № 2. С. 20-26.
- Моргуль Е.В., Колмакова Т.С., Мальцев С.В., Оксенюк О.С. 2015. Содержание перекисей в сыворотке детей с аллергическими заболеваниями // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. Т.17. №1. С. 26-28.
- Сизякина Л.П., Лебеденко А.А., Мальцев С.В., Посевина А.Н., Аверкина Л.А. 2015. Крапивница у детей: современный взгляд на проблему // Медицинский вестник Юга России. № 4. С. 5-13.
- Стагниева И.В., Симбирцев А.С. 2015. Определение роли субстанции Р и болевого симптома в диагностике иммунных нарушений при риносинусите // Иммунология. Т. 36, № 5. С. 295-300.
- Alduraywish S.A., Lodge C.J., Campbell B., Allen K.J., Erbas B., Lowe A.J., Dharmage S.C. 2016. The march from early life food sensitization to allergic disease: a systematic review and meta-analyses of birth cohort studies // Allergy. V. 71. № 1. P. 77-89.
- Lee C.H., Yu H.S. 2011. Biomarkers for itch and disease severity in atopic dermatitis // Curr Probl. Dermatol. V. 41 P. 136-148.
- Shaker M. 2014. New insights into the allergic march // Curr. Opin. Pediatr. V. 26. № 4. P. 516-520.

Tsukahara H., Shibata R., Ohshima Y., Todoroki Y., Sato S., Ohta N., Hiraoka M., Yoshida A., Nishima S., Mayumi M. 2003. Oxidative stress and altered antioxidant defenses in children with acute exacerbation of atopic dermatitis // Life Sciences. V. 72. № 22. P. 2509-2516.

INDICATORS OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN CHILDREN WITH ALLERGIC DISEASES

**T.S. Kolmakova, E.V. Morgul, O.S. Oksenjuk, Yu.A. Kalmykova,
O.B. Smirnova, A.R. Morgul**

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don

Urticaria and atopic dermatitis are accompanied by the development of an inflammatory reactions and endogenous intoxication. We studied the emergence of endotoxin products in the blood of children of 1 to 5 years old suffering from atopic dermatitis, urticaria. The content of IgE in the blood of children is correlated with cortisol and reflects the nature of the inflammatory process. The acute inflammatory process in urticaria is accompanied by depletion of hormone reserves and a more pronounced accumulation of endotoxemia products - CEC and MSM, determined at wavelengths of 280 and 254 nm compared with atopic dermatitis. Oxidative processes are more expressed at atopic dermatitis and reflect damages of cell structures including DNA. The chronic disease forms of adaptive mechanisms to limit the inflammatory process. This leads to an increase in the level of cortisol in the blood of children with atopic dermatitis.

Keywords: *children, urticaria, atopic dermatitis, middle-mass molecules, circulating immune complexes, cortisol.*

Об авторах:

КОЛМАКОВА Татьяна Сергеевна – доктор биологических наук, доцент, заведующая кафедрой медицинской биологии и генетики, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, e-mail: tat_kolmakova@mail.ru

МОРГУЛЬ Елена Валерьевна – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры медицинской биологии и генетики, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, e-mail: ozoedu@mail.ru

ОКСЕНЮК Оксана Станиславна – кандидат медицинских наук, руководитель Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет»,

344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, e-mail: oksenuk_o@bk.ru

КАЛМЫКОВА Юлия Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, e-mail: vasil5493@rambler.ru

СМИРНОВА Ольга Борисовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, e-mail: zolochevskaj51@mail.ru

МОРГУЛЬ Анна Романовна – студентка 3 курса лечебно-профилактического факультета, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, e-mail: ozoedu@mail.ru

Колмакова Т.С. Показатели эндогенной интоксикации при аллергических заболеваниях у детей / Т.С. Колмакова, Е.В. Моргуль, О.С. Оксенюк, Ю.А. Калмыкова, О.Б. Смирнова, А.Р. Моргуль // Вестн. ТвГУ. Сер.: Биология и экология. 2019. № 3. С. 25-34.